

东亚飞蝗两型馬氏管螢光物質紙层析比較研究*

VERGLEICHEND PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN
DER FLUORESZIERENDEN STOFFEN IN DEN MALPIGISCHEN GEFÄSSEN
ZWEIER PHASEN VON *LOCUSTA MIGRATORIA MANILENSIS* (MEYEN)

王敏慧 馮喜昌 趙文芳

Wang Min-hui Feng Xi-chang Zhao Wen-fang

(中国科学院动物研究所)

(Zoologisches Institut, Academia Sinica)

早在二、三十年前动物学家就已经知道昆虫马氏管中含有大量的螢光物质。但自从法国人 Drilhon 与 Busnel (1938, 1939, 1941 等) 报导昆虫马氏管中儲有核黄素等螢光物质以来, 这方面的研究工作至今仍是相当少的, 并且多半局限于组织学的范围(螢光显微镜的观察)。对于各类羣昆虫马氏管螢光物质的化学性质和生理意义, 则缺乏进一步研究。近几年来, 有少数工作者发现某些昆虫种以下类羣的马氏管螢光物质有一定差异。石原 (1958) 研究了家蚕的油蚕突变型马氏管中核黄素含量的变化。Wessing 等 (1961, 1962) 报导了果蝇 *Drosophila melanogaster* 几个突变型间马氏管一些螢光物质的差异。这项工作以双向紙层析法比较东亚飞蝗两型马氏管螢光物质的异同。

一、材料与方法

羣居与散居两型的成虫, 都是在河南浚县飞蝗发生地采集跳蝻而分別按不同密度饲养所得。对于羣居蝗, 采 1—2 龄跳蝻饲养在 $33 \times 33 \times 33$ 厘米的铁纱笼内, 密度是每笼 300 头。对于散居蝗, 采 5 龄跳蝻饲养在 $33 \times 33 \times 33$ 厘米的铁纱笼内, 密度是每笼 10 头。两型蝗虫均饲以玉米及野生的稗草和芦苇等。饲养所得两型成虫外形差异颇为显著。羽化后第 10 天取出马氏管, 分別保存在装有无水甲醇的棕色瓶内。两型各取 200 头, 每个类型都是雌雄各半。紙层析试验是在北京本所进行的。对两型材料以同样方法处理, 每次试验互为对照。一般取 5—7 头虫的马氏管连同少量甲醇浸出液在匀浆器内研磨提取, 并加入 75% 甲醇以补足为 5 毫升的试样; 提取液经真空减压浓缩后施于紙上, 所用滤紙主要是北京滤紙; 双向紙层析都是上行的, 并在暗室中进行。层析温度为 20°C 左右。所用溶剂系统有以下四组: A. 正丙醇: 1% 氨水 (2:1)/4% 柠檬酸钠; B. 正丙醇: 1% 氨水 (2:1)/正丁醇: 5N 乙酸 (2:1); C. 正丙醇: 1% 氨水 (2:1)/水饱和三甲基吡啶; D. 正丙醇: 1% 氨水 (2:1)/3% 氯化铵。紙譜干燥后, 在暗室中用 $365\text{m}\mu$ 紫外光灯检查螢光斑点。

二、结果与讨论

上述四组溶剂系统所作出的双向紙层析譜上都能检到 15—20 块螢光斑点。所得的

* 这项工作是飞蝗变型问题研究的一部分。所用飞蝗标本是由我所高懋曾同志提供的, 于此谨志谢意。

层析谱见附图(少数不规则的斑点和模糊不清的斑点未在图中录出)。这些萤光斑点的颜色粗分为蓝、黄和蓝紫三种;萤光强度分五级(图中用罗马数字表示, I 级极亮, V 级大致明显可见)。斑点出现情况可分经常检出(图中用实线表示)和部分试验检出(图中用虚线表示)两类。试验的重复性一般较好,有利于两型的比较。大多数斑点在出现情况和萤光强度方面都是相对稳定的,并且在两型间是一致的。部分斑点显得不十分规则。有几块斑点则在两型间存在着萤光强度和出现情况的不同,其中最突出的是核黄素的斑点大小与萤光强度。此物质在羣居型马氏管的层析谱(代号为 M①)中斑点都很大,强度都是 I/II 级,而在散居型马氏管的层析谱(代号为 M②)中斑点显著较小,强度都是 IV/V 级。两型样品的四组溶剂系统层析结果分别加以对比说明如下。

系统 A M①重复 7 次, M②重复 6 次。图 1 录出了 15 块斑点。两者之间除 A8 有明显的量的差别外, M①无 A7、A11; M②无 A13、A14 斑点。A9、A12 与 A15 似乎也表现出一定的差异。其余斑点则几乎完全一致。

系统 B M①重复 7 次, M②重复 6 次。总共检得约 20 块斑点。图 2 录出了 15

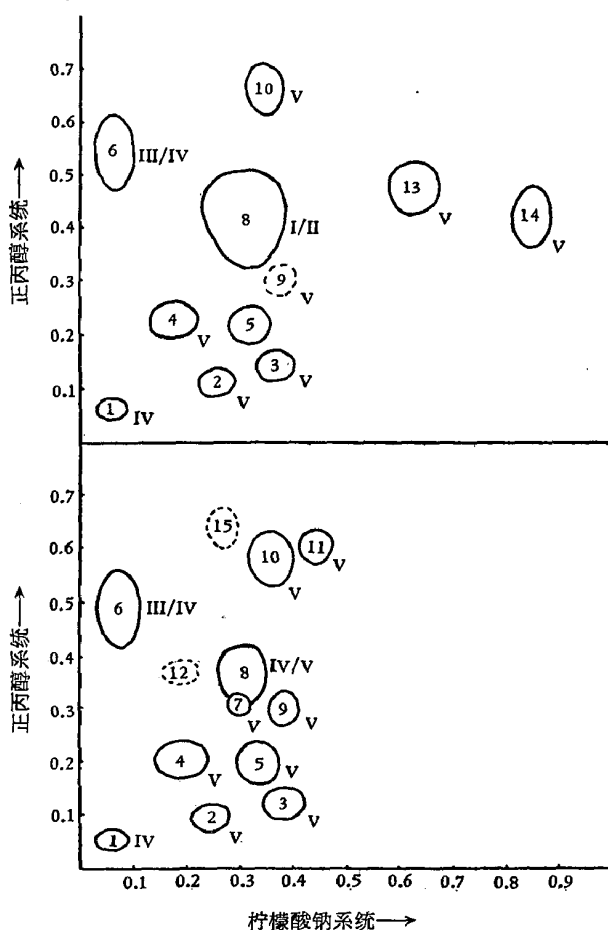


图 1 东亚飞蝗两型马氏管提取物在系统 A 所展开的纸层析谱上显示的萤光斑点分布图。

上: 羣居型; 下: 散居型。

块。两型间的差异首先表现在 A8 的大小和萤光强度上, M① 的为 I/II 级而 M② 的为 IV/V 级, 前者大而后者小。但 A9 和 A10 两块斑点的情况则相反, M② 的比 M① 的稍强。其余斑点几乎完全一样。

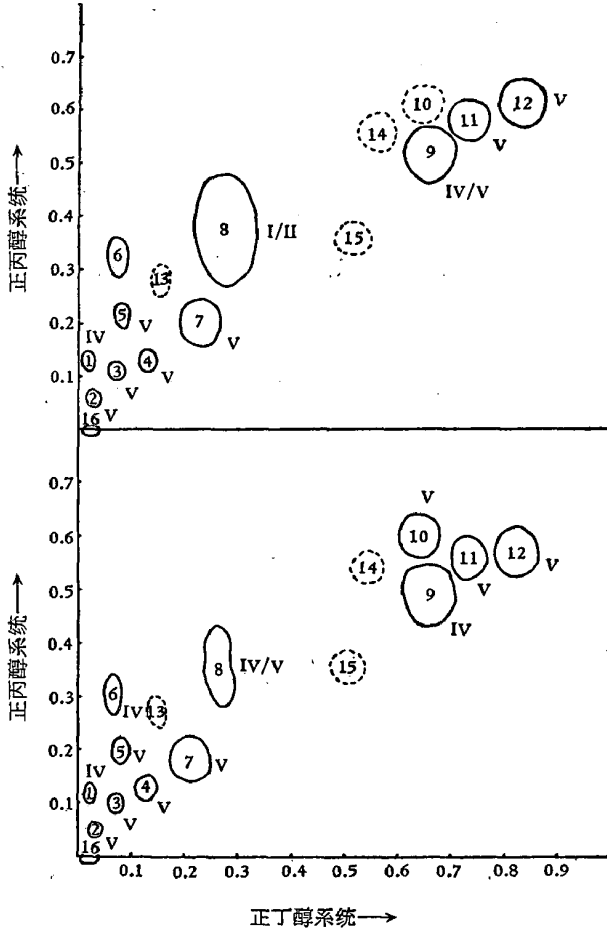


图 2 东亚飞蝇两型马氏管提取物在系统 B 所展开的纸层析谱上显示的萤光斑点分布图。
上: 群居型; 下: 散居型。

系统 C M① 和 M② 均重复 3 次。总共检出将近 20 块斑点。图 3 录出了其中的 13 块。一些不清晰的斑和不稳定的斑未录出。这里 C8 在萤光强度和斑点大小方面显著不同。此外, C2、C9、C11、C12 和 C13 在出现情况或萤光强度方面也显示出一定差异。其余各斑则大致相同。

系统 D M① 和 M② 均重复 6 次。图 4 共录出比较清晰和整齐的 16 块斑点。两型间也显示出某些差异。M① 的 D8 为 I/II 级, M② 的则是 IV/V 级。此外, M① 检出 D11 而 M② 检出 D13。图上其余斑点基本上是一样的。

以上四系统所作纸层析谱上最突出的斑点显然是 A8、B8、C8 与 D8。这些斑点看来应是同一物质。事实上它们都发黄色萤光, M① 的 I/II 级很明亮, 在日光下也略呈黄色; M② 的为 IV/V 级, 较暗淡, 略呈灰黄色。用核黄素作对照样品进行同样系统的层析时,

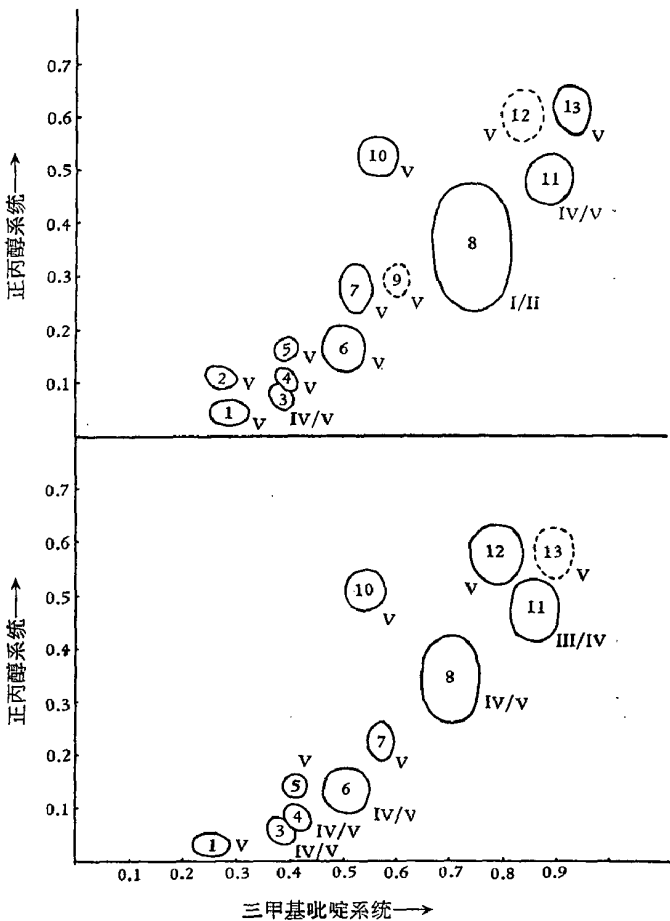


图3 东亚飞蝗两型马氏管提取物在系统C所展开的纸层析谱上显示的
萤光斑点分布图。
上：羣居型； 下：散居型。

发现其与8号斑点有相似的层析行为和萤光特性。核黄素也早已被查明为许多昆虫（包括直翅类）马氏管中都含有的萤光物质（Drilhon et Busnel 1939，等）。因此我们可以初步断定8号斑点是核黄素。但是在一些层析谱中，8号斑点除含有核黄素外，可能还混有 R_f 值与核黄素很接近的A7物质。A7与D9很可能是同一物质，而且在两型的马氏管中都存在。作者认为，在A系统中由于M①的核黄素过于浓厚，因而不易检出此物质；但在M②中则因核黄素量少而能检出它。在D系统中，由于它在两向的 R_f 值都较核黄素偏低而在M①和M②都能检出。此物质在其他两组系统中的层析行为可能与核黄素很接近，因此往往与之相混合而不易分出。由此看来，B8、C8和A系统中M①的A8都可能不单纯是核黄素而混有少量的A7物质。我们曾就B系统层析谱剪下M①的B8，洗脱后测定紫外吸收曲线，但其结果与核黄素标准样品有一定出入。这很可能正是由于上述情况所致。从所列附图固然不难看出核黄素的含量明显地是羣居型的大而散居型的小。可是A11物质的含量却是羣居型的小而散居型的较大。就层析情况对照来看，A11与B13很近似，B10与C12相仿，而这四者在正丙醇系统中的 R_f 值比较接近。就萤光来看，这四

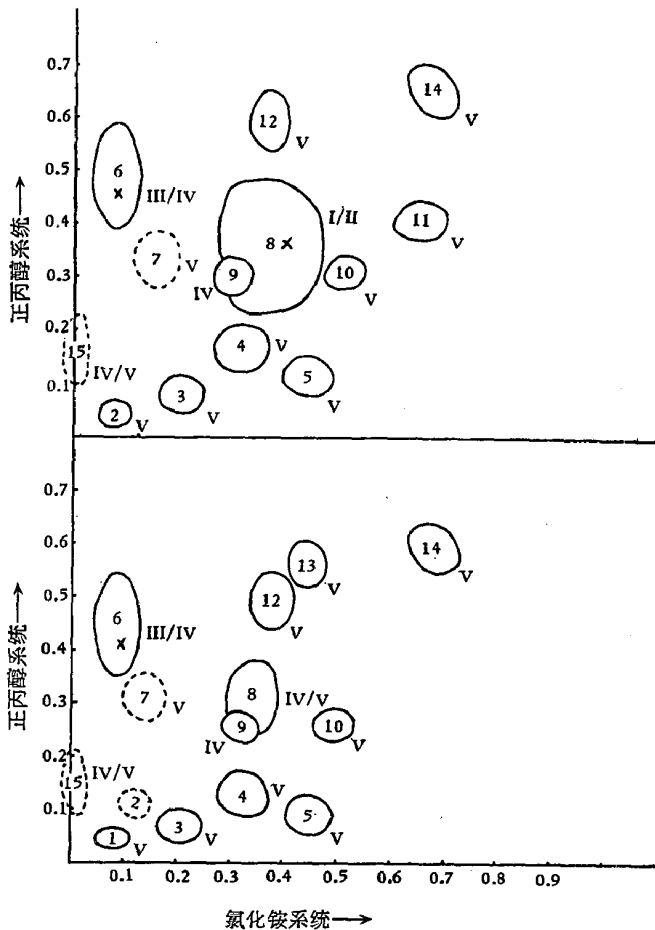


图4 东亚飞蝗两型马氏管提取物在系统D所展开的纸层析谱上显示的荧光斑点分布图。

上: 群居型; 下: 散居型。

者都发暗黄色的荧光,强度一般V级乃至不足V级。据此我们认为A11、B10、C12与D13这四块斑点应是同一物质。在此次试验中, M① 检不到A11和D13,而且也不能经常检到B10和C12。相反地M②却能经常检到。显然这是由于群居蝗马氏管中此物质含量较少的缘故。可以认为这是两型间的一个较明显的差异。顺便指出, A5物质与B7、C6和E4应是同一物质。就其荧光颜色(蓝紫色)和几丁溶剂系统中的层析行为来看,它与粘虫复眼荧光物质层析谱上检到的异黄蝶呤很近似。(王、周与冯,1965)同时它也与我们在东亚飞蝗复眼提取物双向层析谱上检到的异黄蝶呤基本上是一致的(尚未发表)。Kürsteiner (1961)曾报导在果蝇 *Drosophila melanogaster* 野生型的蛹便中检到异黄蝶呤,其来源很可能是马氏管。看来异黄蝶呤既存在于复眼也存在于马氏管,并且其间可能有一定的关系。

本项试验初步查明两型马氏管大多数荧光物质都是相对稳定的和一致的。这在一定程度上可以说明这些物质的储积是由东亚飞蝗的遗传特性所决定的。但不可否认某些物质明显地受到后天影响;在两个密度型的马氏管中,核黄素等物质含量的不一致和少数斑

点的不规则都可说明这一点。应该指出,石原(1958)和 Ursprung、Graf 与 Anders (1958) 等都讨论过马氏管中核黄素的遗传控制与营养影响问题。看来它是既受遗传控制而也会受环境条件影响的。当然,在这里并没有足够的资料允许我们从萤光物质的生理生化角度来探讨飞蝗密度型的遗传生态学理论。我们只打算指出这样一点,虽然食料基本上是一致的,但两型马氏管萤光物质间存在着相当明显的差异。首先,两型间某些物质的含量是不一致的,例如核黄素的含量显然是群居型的大而散居型的小。相反地 A11 物质的含量却是群居型的小而散居型的较大。其次,个别物质可能仅存在于两型之一的马氏管中。(关于这一现象尚需进一步查明)。总的说来,这里的差异比 Viscontini 与 Stierlin (1962) 报导的 *Ephestia Kühniella* 野生型与红眼突变型间复眼提取物双向层析谱所显示的萤光斑点差异更加显著。事实上,两型东亚飞蝗不仅在外形形态上有所不同,而且近年研究也已揭示了生物学特性方面的某些差异(黄与马, 1964)。我们这项工作或许可以说是给两型分化初步提出一个新的生物化学方面的证据。

参 考 文 献

- 王敏慧、周德明、冯喜昌 1965. 粘虫头部萤光物质纸层析及电泳研究。昆虫学报 14(1):93—8。
- 石原廉 1958. 家蚕幼虫のマルピーギ管に関する研究 (VI) 油蚕性とマルピーギ管のリボフラビン量。蚕丝学雑誌27(6):382—7。
- 黄亮文、马世骏 1964. 东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) 二型生物学特性的初步研究。昆虫学报 13(3):329—38。
- Busnel, R.-G. et A. Drilhon 1941. Une nouvelle substance fluorescente dans le tube de Malpighi de la chenille de *Bombyx neustria* L. C. R. Soc. Biol. 135:1009—11.
- Drilhon, A. et R.-G. Busnel 1938. Dosage et répartition de la flavine chez les Lépidoptères. Comptes rendus. 207:92.
- Drilhon, A. et R.-G. Busnel 1939. Sur la présence et la teneur en flavine des tubes de Malpighi des insectes. Comptes rendus. 208:839—41.
- Kürsteiner, R. 1961. Über die fluoreszierenden Stoffe (Pterine) in den Meconien der Wildrasse und der Mutanten White und ROSY² von *Drosophila melanogaster*. J. Inst. Physiol. 7(1):5—31.
- Ursprung, H., G. E. Graf und G. Anders 1958. Experimentell ausgelöste Bildung von rotem Pigment in den Malpighischen Gefäßen von *Drosophila melanogaster*. Revue Suisse de Zoologie. 65(2):449—60.
- Viscontini, M. und H. Stierlin 1962. Fluoreszierende Stoffe aus *Ephestia kühniella* Zeller. 3. Mitteilung. Helv. Chim. Acta. 45:2479—87.
- Wessing, A. und R. Danneel 1961. Die Speicherung von Oxyknurenin in den Malpighischen Gefäßen verschiedener Augenfarbermutanten von *Drosophila melanogaster*. Z. Naturforschg. 16b:388—90.
- Wessing, A. und A. Bonse 1962. Untersuchungen über die Speicherung und Ausscheidung von freiem Tryptophan durch die Malpighischen Gefäße von *Drosophila melanogaster*. Z. Naturforschg. 17b:620—2.